

Also published as:

 JP2694923 (B2)Publication number: **JP8310970 (A)**

Publication date: 1996-11-26

Inventor(s):

SAKURAI YASUHISA; OKANO MITSUO; KATAOKA KAZUNORI; YAMADA NORIKO; INOUE SHOHEI;
YOKOYAMA MASAYUKI ±

Applicant(s):

JAPAN RES DEV CORP ±

Classification:

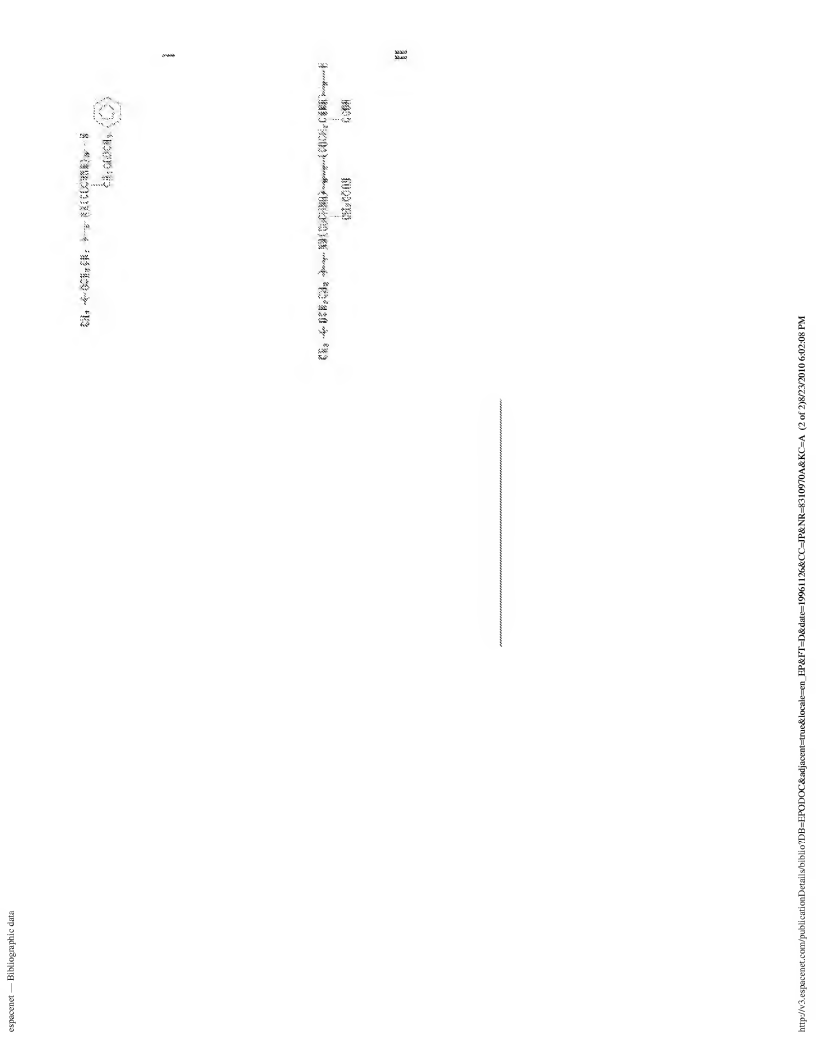
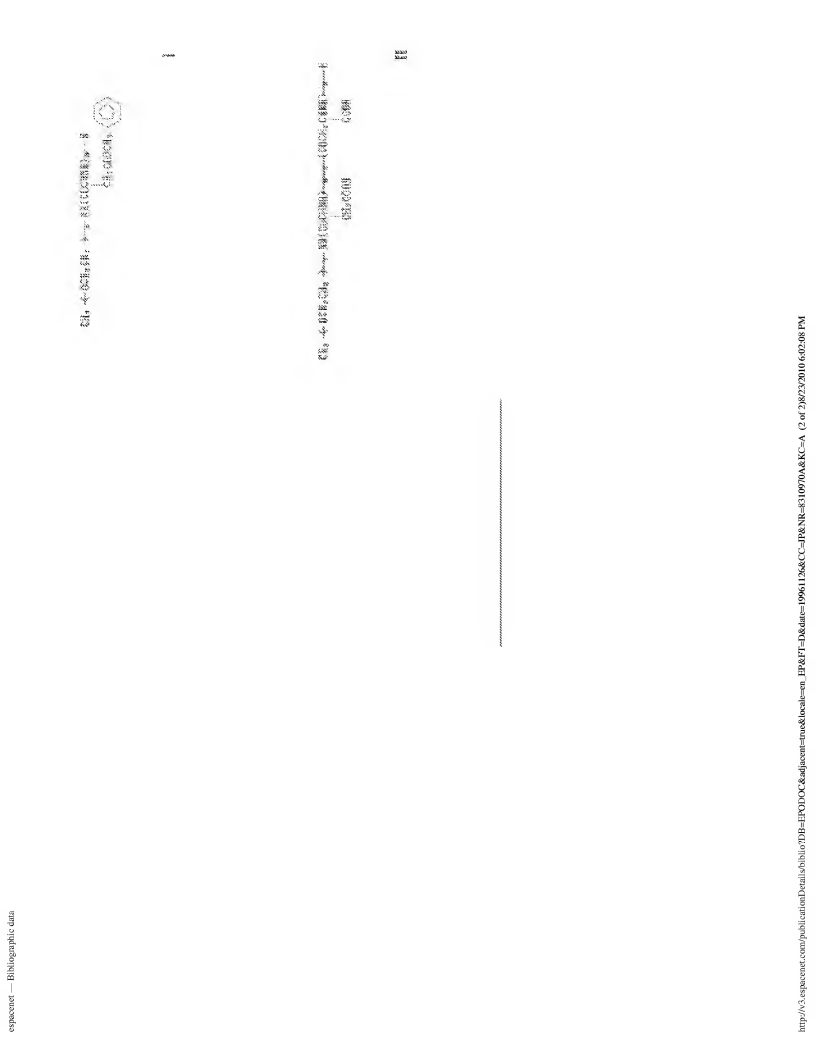
- international: A61K31/70; A61K47/42; A61K47/48; A61K9/00; A61P35/00; C08G69/10; C08G69/48; A61K31/70;
A61K47/42; A61K47/48; A61K9/00; A61P35/00; C08G69/00; (IPC1-7): A61K31/70; A61K47/42; A61K47/48;
A61K9/00; C08G69/10; C08G69/40; C08G69/48

- European:

Application number: **JP19950211596 19950821**Priority number(s): **JP19950211596 19950821**[View INPADOC patent family](#)[View list of citing documents](#)[Report a data error here...](#)Abstract of **JP 8310970 (A)**[Translate this text](#)

PURPOSE: To obtain the subject pharmaceutical preparation composed of a block copolymer having a hydrophilic segment and a hydrophobic pharmacological segment holding a drug bonded to a side chain, exhibiting high water- solubility even at a high drug-carrying amount and having high stability as a drug.

CONSTITUTION: This pharmaceutical preparation is composed of a block copolymer having a hydrophilic segment and a hydrophobic segment holding a drug bonded to a side chain and having pharmacological function. The objective preparation can be produced e.g. by polymerizing β-benzyl-L-aspartate N- carboxylic acid anhydride using a polyethylene glycol having an alkoxy group on one terminal and a primary amino group on the other terminal as an initiator, hydrolyzing the obtained block copolymer of formula I ((n) is 5-400) with an alkali to obtain a block copolymer of formula II ((X) is 0-300) and forming an amide bond between the side chain carboxyl group of the polyaspartic acid segment of the copolymer and the primary amino group of adriamycin known as a carcinostatic agent. The copolymer of formula II is a new copolymer.



特開平8-310970

(43) 公開日 平成8年(1996)11月26日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 47/48			A 6 1 K 47/48	C
			9/00	A
	31/70	A D U	31/70	A D U
	47/42		47/42	C
C 0 8 G 69/10	N R N		C 0 8 G 69/10	N R N

審査請求 有 請求項の数 7 O L (全 7 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平7-211596
 (62) 分割の表示 特願平1-116082の分割
 (22) 出願日 平成1年(1989)5月11日

(71) 出願人 390014535
 新技術事業団
 埼玉県川口市本町4丁目1番8号
 (72) 発明者 桜井 清久
 東京都杉並区永福3-17-6
 (72) 発明者 岡野 光夫
 千葉県浦安市美浜5-4-808
 (72) 発明者 片岡 一則
 千葉県柏市大室1083-4 柏ビレジ141-9
 (74) 代理人 弁理士 平木 祐輔

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 水溶性高分子化医薬製剤

(57) 【要約】

【解決手段】 親水性セグメントと、側鎖に薬物を結合せしめた疎水性の薬理機能セグメントとを有する水溶性のブロック共重合体からなる水溶性高分子化医薬。

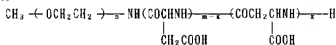
【効果】 薬物の担持量を増やしても良好な水溶性を保持するとともに医薬として高い安定性を有する高分子化医薬が提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 親水性セグメントと、側鎖に薬物を結合せしめた疎水性の薬理機能セグメントとを有するブロック共重合体からなる水溶性高分子化医薬。

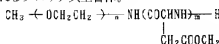
【請求項2】 薬理機能セグメントを内核に親水性セグメントを外核とするミセルを形成するものである請求項1記載の水溶性高分子化医薬。

【請求項3】 薬物が抗がん剤である請求項1記載の水溶性高分子化医薬。



(1)

(式中、nは5~400、mは1~300、xは0~300の整数を表す。)で示されるブロック共重合体。



(11)

(式中、nは5~400、mは1~300の整数を表す。)で示されるブロック共重合体をアルカリ加水分解することと特徴とする請求項3記載のブロック共重合体の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、親水性セグメントと、側鎖に薬物を結合せしめた疎水性の薬理機能セグメントとを有する水溶性ブロック共重合体からなる水溶性高分子化医薬に関するものである。

【0002】

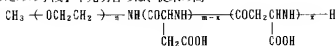
【従来の技術】低分子薬物を高分子に結合させることにより、薬物の体内分布を望ましいものとし、薬物の体内半減期を増大させる試みは過去に幾つか行われてきた。しかし、それらの試みで用いられた高分子は単一成分からなるホモポリマーか、2つの成分を交互に順不同に重合させたものであった。従来の上記のようなポリマーの場合においては、薬効を上昇させるために薬物の担持量を増やすと薬物の疎水性により、水溶性が低下する欠点があった。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、薬物の担持量を増やすとしても水溶性が低下しない水溶性の高分子化医薬を提供することを目的とする。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、従来の高



(1)

(式中、nは5~400、mは1~300、xは0~300の整数を表す。)

【0008】で示されるブロック共重合体である。さら

【請求項4】 抗がん剤がアドリアマイシンである請求項3記載の水溶性高分子化医薬。

【請求項5】 親水性セグメントと、薬物と結合可能な側鎖を有し、該薬物を結合した場合において疎水性となる第2のセグメントとからなるブロック共重合体からなる薬物担持用担体。

【請求項6】 下記式I:

【化1】

【請求項7】 下記式II:

【化2】

分子化医薬の持つ欠点を解消しうる高分子化医薬の開発を試み、鋭意研究を行った結果、今回、親水性の第1のセグメントと第2のセグメントから成るブロックポリマーのうち第2のセグメントに薬物を選択的に導入することで、この第2のセグメント成分を疎水性化することにより、第2のセグメントを内核に、第1のセグメントを外側とするミセルを形成させることで薬物の導入に伴う水溶性の低下、沈澱の生成を防ぐことに成功したものであり、本発明者らが開発した高分子化医薬はミセルを形成することで良好な水溶性を有すると共に、水溶液中での薬品としての安定性も、元の薬物よりも増大させることができるものである。

【0005】すなわち、本発明は、親水性セグメントと、側鎖に薬物を結合せしめた疎水性の薬理機能セグメントとを有するブロック共重合体からなる水溶性高分子化医薬である。ここで上記水溶性高分子化医薬は、薬理機能セグメントを内核に、親水性セグメントを外核とするミセルを形成するものである。また、薬物としては抗がん剤、例えばアドリアマイシンが挙げられる。

【0006】さらに、本発明は、親水性セグメントと、薬物と結合可能な側鎖を有し、該薬物を結合した場合において疎水性となる第2のセグメントからなる薬物担持用担体である。さらに、本発明は、下記式I:

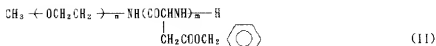
【0007】

【化3】

に、本発明は、下記式II:

【0009】

【化4】



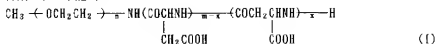
(式中、nは5～400、mは1～300の整数を表す。)

【0011】

【0010】で示されるブロック共重合体をアルカリ加

【化5】

水分解することを特徴とする下記式I:



(式中、nは5～400、mは1～300、xは0～300の整数を表す。)

【0012】で示されるブロック共重合体の製造方法である。以下、本発明を詳細に説明する。本発明における親水性の第1のセグメントとしては、例えばポリエチレングリコール、ポリサッカライド、ポリアクリルアミド、ポリメタクリルアミド、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ポリメタクリル酸エステル、ポリアクリル酸エステル、ポリアミノ酸等あるいはこれらの誘導体由来のセグメントが挙げられる。また、薬物と結合して疎水化する第2のセグメントとしては、側鎖にポリアスパラギン酸、ポリグルタミン酸、ポリリシン、ポリアクリル酸、ポリメタクリル酸、ポリリンゴ酸、ポリ乳酸、ポリアルキレンオキシド、長鎖アルコール等あるいはこれらの誘導体由来のセグメントが挙げられる。

【0013】更に、第2のセグメントに結合させる薬物としては、例えばアドリアマイシン、ダウノマイシン、メソトレキセート、マイトマイシンC等の抗ガン剤、中枢神経系用薬、末梢神経系用薬、アレルギー用薬、循環器官用薬、呼吸器官用薬、消化器官用薬、ホルモン剤、代謝性医薬品、抗生物質、化学療法剤等の薬物が挙げられる。

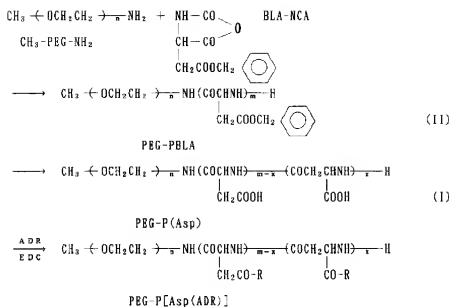
【0014】以下に、ポリエチレングリコール誘導体由来のセグメントとポリアスパラギン酸由来のセグメントからなるブロックコポリマーで、抗ガン剤のアドリアマイシンをポリアスパラギン酸セグメントに結合させた場合を例にとり、本発明を更に詳述する。

【0015】第1図はポリエチレングリコールとポリアスパラギン酸の2成分からなるブロックコポリマーで、抗ガン剤のアドリアマイシンをポリアスパラギン酸の側鎖カルボキシル基に体内で加水分解可能なアミド結合で結合させた場合における、本発明の高分子化医薬の構造概略図である。

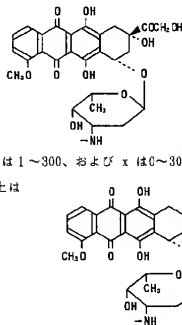
【0016】この高分子化医薬の合成は、以下の反応式に示すごとくβ-ベンジル-L-アスパルテートN-カルボン酸無水物(BLA-NCA)を、片末端メトキシ基等のアルコキシ基、片末端1級アミノ基のポリエチレングリコール(分子量250～1800)を開始剤として重合させ、ポリエチレングリコール-ポリ(β-ベンジル-L-アスパルテート)ブロックコポリマー(PEG-PBLA)を得、次いでこのPEG-PBLAをアルカリ加水分解して本発明の薬物担持用担体であるポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロックコポリマー(PEG-P(Asp))を得る。このPEG-P(Asp)のアスパラギン酸残基の80%がアルカリ加水分解の際にβ-アミド化している。このPEG-P(Asp)に抗ガン剤のアドリアマイシンと水溶性カルボジイミド(EDC)を加えることによりアドリアマイシンの1級アミノ基とポリアスパラギン酸セグメントの側鎖カルボキシル基との間にアミド結合を形成させて、高分子化医薬PEG-P(Asp(ADR))を得ることにより行う。

【0017】

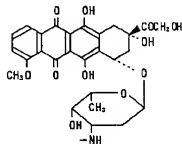
【化6】



(式中、R は OH あるいは



を表し、n は 5 ~ 400、m は 1 ~ 300、および x は 0 ~ 300 の整数を表し、R の少なくとも 1 つ以上は



を表すものとする。)

【0018】上記において得られた PEG-P (Asp) 及び PEG-P [Asp(ADR)] のいずれも化学物質として新規なものである。ポリアスパラギン酸 (PAsp) 部分の分子量は 116 から 35,000 まで可変であり、また、アドリアマイシンの置換率 (アスパラギン酸残基に対して) は PAsp の分子量が 1900 の場合 12 ~ 33 mol %、また、10,000 の場合 3 ~ 37 mol % のものを得ている。

【0019】合成した高分子医薬はいずれの場合も高いアドリアマイシン置換率にもかかわらず良好な水溶性を有しており、凍結乾燥したり濃縮したり (アドリアマイシン換算 20 mg/ml) してもその水溶性は保たれている。

【0020】そして、この高分子化医薬は元のアドリアマイシン (ADR) に比べて医薬としての高い安定性を有している。またこの高分子化医薬は水溶液中でミセル

を形成する。そのミセルの大きさは約 30 nm から 200 nm の直径である。また、そのミセルを壊すには界面活性剤 SDS の添加という極端にきびしい条件が必要であることが明らかとなり、本高分子ミセルの水中での安定性が示された。また、超音波照射、あるいは凍結乾燥によってもミセル形成能に変化はみられなかった。合成した高分子化医薬の抗ガン活性は表 1 (実施例 3 参照) に示すように元のアドリアマイシンよりも高いものであった。しかもその高い抗ガン活性は元のアドリアマイシンよりも少ない副作用の範囲で達成された。

【0021】

【発明の実施の形態】

〔実施例 1〕β-ベンジル L-アールバルテート N-カルボン酸無水物 (BLA-NCA、7.21 g) を N、

N'-ジメチルホルムアミド (DMF) 12mlに溶かし、クロロホルム60mlを加える。片末端メトキシ基片末端アミノ基のポリエチレングリコール (分子量4300) 6.00gをクロロホルム60mlに溶かしその溶液をBLA-NC A溶液に加える。70時間後に反応混合液を2Lのジエチルエーテルに滴下して沈澱したポリマーをろ過で回収して、ジエチルエーテルで洗浄した後に真空中で乾燥してポリエチレングリコール-ポリ(β-ベンジル L-アスパルテート) ブロックコポリマー (PEG-PBLA) を得る。収量 10.09g (84%)。

【0022】PEG-PBLA 10.03gを100mlクロロホルムに溶かす。水:メタノール:1-プロパノール=1:1:2 (体積割合) に水酸化ナトリウムを0.43N溶かしたアルカリ混合液をPEG-PBLA溶液に加える。そのアルカリの等量はPBLA部分のベンジルエーテルの1.5倍になるようにした。0℃、10分かくはん後、2Lのジエチルエーテルに滴下する。沈澱したポリマーをろ別して、20mlの蒸留水に溶かしてSpectrapor 7透析膜 (分子量分画=1000) を用いて水中で39時間透析する。膜内の溶液を凍結乾燥してポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロックコポリマー [PEG-P (Asp)] を得る。収量3.94g (49%)。このブロックコポリマー鎖1本当り、17個のアスパラギン酸残基があることがプロトンNMRの測定によりわかった。

【0023】この [PEG-P (Asp)] 230.3mgを1mlの蒸留水に溶かしておく。アドリアマイシン塩酸塩349.2mgを260mlのDMFに溶かし、1.3倍等量のトリエチルアミンを加える。アドリアマイシン溶液に [PEG-P (Asp)] 水溶液を加え、さらに水溶性カルボジミド (EDC) を886ml加えて、0℃で4時間かくはんする。その後、水溶性カルボジミド 886mlをもう一度加えて室温下19時間かくはんする。反応混合液をSpectrapor 7透析膜 (分子量分画=1000) を用いて0.1M酢酸ナトリウム緩衝液 (pH4.5) 中で3時間透析する。透析後、AmiconYM30の膜で限外ろ過して未反応のアドリアマイシンやその他の低分子量を除く。得られたブロックコポリマーPEG-P [Asp(ADR)] 中のアドリアマイシン含有率は、アスパラギン酸残基に対して 31mol%であった。(485nmの吸収より) 同様の手順で、ポリエチレングリコールの分子量が4000から6000、ブロックコポリマー1本鎖当りアスパラギン酸残基が17から92まで、アドリアマイシン含有率が9mol%から37mol%のものが合成で

き、それらはすべて良好な水溶性を示した。

【0024】〔実施例2〕PEG-P [Asp(ADR)] (PEGの分子量4300、ブロックコポリマー1本鎖当り17個のアスパラギン酸残基、アドリアマイシン 31mol%のもの) のリン酸等張液 (pH7.4) 中でのミセル径はレーザー光散乱により重量平均57nm、数平均49nmと測定された (図5参照)。また、図3に示すようにゲル過渡HPLCでは、界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム (SDS) の添加により元のピークの大部分が低分子量側に移動することより、SDSによる高分子量ミセルの破壊が観察された。また、図4に示すように、アドリアマイシンに基づく蛍光がミセル形成による局所的な高濃度のために消光し、その消光がSDS添加によってミセルが壊れることで解消していることがわかる。その他の割合のものも30nmから80nmの直径を有するミセルであった。

【0025】図2は pH7.4 のリン酸緩衝液中 (37℃) でアドリアマイシン特有の485nmの吸収強度を経時的に追跡したものである。アドリアマイシンが1.00時間以内にその吸収を半減するのに対し、合成された高分子化医薬では168時間経過後も約90%の吸収が保持され、極めて安定であることがわかる。

【0026】〔実施例3〕CDF1メスのマウスにP388マウス白血病細胞を 10^6 個腹腔内に投与し、24時間後に生理食塩水に溶かしたPEG-P [Asp(ADR)] (PEGの分子量4300、ブロックコポリマー1本鎖当り17個のアスパラギン酸残基、アドリアマイシン31mol%のもの) 腹腔内に投与した。コントロール (1日後に生理食塩水を投与) に対する生存日数の比 (T/C) と体重変化を測定した。1群は6匹で行った。結果を表1に示す。アドリアマイシン (ADR) ではT/Cは最大381%であるのに対し高分子化医薬ではADR換算 200mg/kgにて49.0%以上という大きな値を得た。さらに副作用の度合を示す体重減少においてもADRでT/Cが381%得られた投与量において12.5%の減少を示したのに対し、高分子化医薬では最大7.4%しか減少していない。このことより、合成した高分子化医薬はADRに比較して少ない副作用で大きな抗ガン活性があることがわかった。

【0027】

【表1】

表1 マウスP388白血病に対する抗ガン活性

サンプル	投与量 (mg/kg)	中間生存 日数 ¹⁾	T/C(%)	体重変化 (5日目)
ADR	7.5	15.3	191	+ 4.4
ADR	15	30.5	381	-12.5
ADR	30	6.5	81	-17.1

PEG-P(Asp(ADR))	80	18.0	225	+ 6.1
PEG-P(Asp(ADR))	120	32.5	382	- 5.5
PEG-P(Asp(ADR))	200	>42.0	>490	- 7.4

1) 無処置: 8.0~8.6日

【0028】

【発明の効果】本発明の高分子化医薬は薬物の相持量を増やしても良好な水溶性を保持するとともに医薬として高い安定性を有しており、しかも副作用も軽減され、したがって、本発明により極めて有用な医薬を提供することができた。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の高分子化医薬製剤PEG-P〔Asp(ADR)〕の構造概略図である。

【図2】アドリアマイシン(ADR)及び本発明の高分子化医薬製剤PEG-P〔Asp(ADR)〕の485 nmの吸

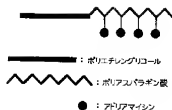
収強度の経時変化を示す図である。

【図3】本発明の高分子化医薬製剤PEG-P〔Asp(ADR)〕、及び該製剤に界面活性剤SDSを加えた場合のゲルろ過HPLCによる分析結果を示す図である。

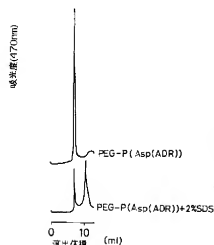
【図4】本発明の高分子化医薬製剤PEG-P〔Asp(ADR)〕、及び該製剤に界面活性剤SDSを加えた場合の蛍光分析結果を示す図である。

【図5】本発明の高分子化医薬製剤PEG-P〔Asp(ADR)〕のミセル径の分布状態をレーザー光散乱により測定した結果を示す図である。

【図1】



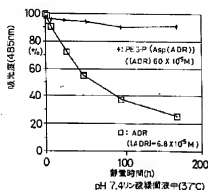
【図3】



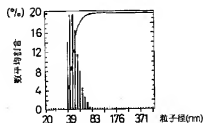
カラム:Asachrok GS-520

溶媒:0.1Mリン酸緩衝液(pH 7.5+0.1M NaCl)

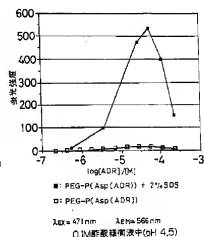
【図2】



【図5】



【図4】



フロントページの続き

(51)Int. Cl. ⁶	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C O S G 69/40	N S P		C O S G 69/40	N S P
69/48	N R H		69/48	N R H
(71)発明者 山田 則子 東京都板橋区前野町6-10 前野町ハイツ 1-601			(72)発明者 井上 祥平 東京都豊島区千早町4-12 キャニオンマ ンション千早町206	
			(72)発明者 横山 昌幸 東京都品川区東大井5-26-25	